ダイオネクス テクニカル リビュー

TR009BU-0034

DIONEX TECHNICAL REVIEW

199509

パルスドアンペロメトリー検出器を用いた糖質分析のための最適設定値

【はじめに】

パルスドアンペロメトリーは、糖質を誘導体化することなしに検出できる非常に優れた検出方法です。パルスドアンペロメトリー検出(PAD)は高性能な陰イオン交換カラム(HPAE)と組み合わせることで、糖質分析に特に有効な手段となります。HPAE-PAD の詳細については、ダイオネクスのテクニカルノート 20 を参照して下さい。また Roy D.Rocklin による小冊子“Conductivity and Amperometry”(P/N 34358)は、アンペロメトリー検出の基本を理解するうえで参考になります。

高 pH 域では、電極に正の電位(E_1)を印加することによって、糖質は金電極表面で酸化されます。このとき発生する電流量は糖質の濃度に比例しているので、成分の定量をすることができます。酸化生成物は電極表面に徐々に蓄積されるので、電極をクリーニングする必要があります。クリーニングはまず Au 電極表面を十分に酸化できるように電位を上げ(E_2)、AuOx の状態にすることで酸化生成物を剥離させます。次に電位を下げ(E_3)、電極表面を還元して Au の状態に戻します。これらの電位のサイクルがパルスドアンペロメトリーの基本的な形です。各電位 E_1、E_2 および E_3 は、それぞれ t_1、t_2、および t_3 ミリ秒間印加されます。酸化電流量の測定は t_1、t_2、t_3 の最適値は実験によって求めることができます。

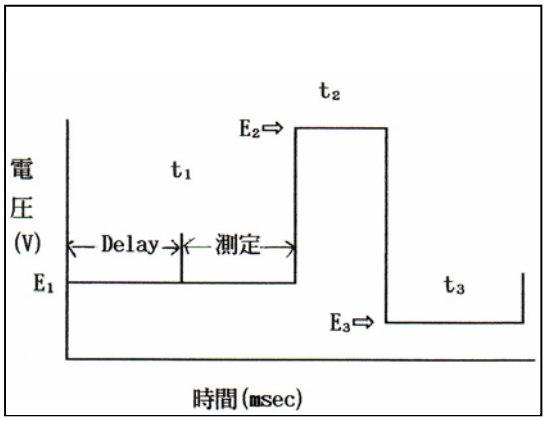

図 1　パルスドアンペロメトリーの典型的な電位差—時間波形

図 1 はパルスドアンペロメトリーの典型的な電位差—時間波形で、この波形の最適化を詳細に検討した論文が LaCourseand と Johnson によって発表されています。

ダイオネクスには、PAD-2、PED-2 および ED-40 の 3 種類のパルスドアンペロメトリー検出器があります。PAD-2 にはスタンダード PAD-2 セルと、耐有機溶媒用 SC-PAD-2 セルの 2 種類のセルがあります。PED-2 と ED-40 にはそれぞれ特別に設計された専用セルがあります。以上の 4 種のセルは外形を含め各部のデザインが異なっています。このためセルによって最適の設定値は異なります。

ED-40 と PED-2 のセルは pH-Ag/AgCl 参照電極を装備しています。pH-Ag/AgCl 参照電極は、電極の pH 部分を参照電極として使用したり、Ag/AgCl 部分を参照電極として使用したりできます。検出器やセル、スイッチなどの設定の詳細については取扱説明書を参照して下さい。

【電位差—時間設定の例】

PED-2、SC-PAD-2、スタンダード PAD-2 セル
—通常推奨設定値—

PED-2 と、スタンダード PAD-2 セルおよび SC-PAD-2 の設定値をそれぞれ表 1A から 1C に示します。これらはイソクラティックの広範囲な分析に有効で、イソクラティック用の溶離液中に酢酸ナトリウムが入っている場合にこれらの設定値で分析を行ってもセルのレスポンスにはほとんど影響がありません。しかしこれらの設定値でのレスポンスは溶離液中の溶存酸素量に敏感で、特にグラジエント分析のときにベースラインドリフトが生じる場合があります。これらの設定値を用いる時のセルレスポンスが不安定であったり、ベースラインドリフトが大きい場合は、表 2A から 2D の設定値を試して下さい。

ED-40 および状況による PED-2、SC-PAD、スタンダード PAD-2 セル
—推奨設定値—

表 2A から 2D に示した設定値は、溶存酸素量の影響を緩和し、ベースラインのドリフトを最小にするため

に考えられたものです。これらの設定値はわずかながら感度の改善もできます。(およそ 20～50%)。またこれらの設定値を SC-PAD-2、PED-2、ED-40 セルで用いると溶離液濃度が 15mmol/L 以上であればセル応答が NaOH 濃度に依存しないということが明らかになりました。その意味で表 2A から 2D に示した設定値は、pH 範囲の広いグラジエントや NaOH 濃度が大きい分析時に特に有効です。これらの設定値では、安定したベースラインが得られ、溶存酸素による悪影響も最小限に抑えられるので、単糖の分析やオリゴ糖のマッピング分析でも、この設定値を使うことをお薦めします。

表 1A　通常の推奨設定値
PED-2 セル(参照電極の Ag/AgCl 部分を使用)

時間(S)	電位(V)	測定
t_1 0.00	+0.05	
0.28	+0.05	開始
0.48	+0.05	終了
t_2 0.49	+0.60	
0.61	+0.60	
t_3 0.62	-0.60	
0.69	-0.60	

表 1B　通常の推奨設定値
PED-2 セル(参照電極の pH 部分を使用)

時間(S)	電位(V)	測定
t_1 0.00	+0.35	
0.28	+0.35	開始
0.48	+0.35	終了
t_2 0.49	+0.95	
0.61	+0.95	
t_3 0.62	-0.25	
0.69	-0.25	

表 1C　通常の推奨設定値
スタンダード PAD-2 セル、SC-PAD-2 セル

時間			電位	
セッティング		ms		V
t_1	5	480	E_1	+0.05
t_2	2	120	E_2	+0.60
t_3	1	60	E_3	-0.60

レンジ 2 を使用

表 2A　推奨設定値
ED-40 セルおよび PED-2 セル
(参照電極の Ag/AgCl 部分を使用)

NaOH 濃度	時間(S)	電位(V)	測定
mmol/L	t_1 0.00	+0.05	
15-900	0.20	+0.05	開始
	0.40	+0.05	終了
	t_2 0.41	+0.75	
	0.60	+0.75	
	t_3 0.61	-0.15	
	1.00	-0.15	

表 2B　推奨設定値
ED-40 および PED-2 セル(参照電極の pH 部分を使用)

NaOH	時間(S)	電位(V)	測定
mmol/L	t_1 0.00	+0.40	
15-900	0.20	+0.40	開始
	0.40	+0.40	終了
	t_2 0.41	+1.00	
	0.60	+1.00	
	t_3 0.61	+0.25	
	1.00	+0.25	

注)NaOH 濃度が 200mmol/L を超える場合は、pH 部分を使用しないで下さい。

表 2C　推奨設定値
SC-PAD-2 セル使用

NaOH 濃度	時間			電位	
mmol/L	セッティング		ms		V
15-900	t_1	4	420	E_1	+0.05
	t_2	3	180	E_2	+0.75
	t_3	6	360	E_3	–0.15

表 2D　推奨設定値 スタンダード PAD-2 セル使用		
NaOH 濃度	時間	電位
mmol/L 15-50	セッティング　ms t_1　4　420 t_2　3　180 t_3　6　360	V E_1　+0.05 E_2　+0.80 E_3　–0.15
mmol/L 15-500	セッティング　ms t_1　4　420 t_2　3　180 t_3　6　360	V E_1　+0.05 E_2　+0.75 E_3　–0.20
mmol/L ＞500	セッティング　ms t_1　4　420 t_2　3　180 t_3　6　360	V E_1　+0.00 E_2　+0.70 E_3　–0.25

注）このセルで NaOH のグラジエントを行う場合はその範囲内での最も端の値を使用して下さい。例えば、20～600mmol/L の NaOH グラジエントの時は E_2 最高値(0.80V)と E_3 最低値(-0.25V)を使用して下さい。また E_1 の値は 0.0V が pH の変化を受けにくいという実験結果がでています。

≪参考文献≫

１．LaCourse,W.R.and Johnson,D.C.Anal.Chem. 1993,65,50-55.[“Optimization of waveformes for pulsed amperometoric detection of carbohydrates based on pulsed voltammetry.”]

□このレポートは、ダイオネクス米国本社が発行した Technical Note TN-21 を和訳したものです。

日本ダイオネクス株式会社
URL http://www.dionex.co.jp

□本　　社 〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-3-14 DNX新大阪ビル TEL(06)6885-1213 FAX(06)6885-1215
□東 京 支 社 〒116-0014 東京都荒川区東日暮里5-17-9 イマス日暮里ビル TEL(03)5850-6080 FAX(03)5850-6085
□名古屋営業所 〒450-0002 名古屋市中村区名駅3-16-3 名駅アイサンビル TEL(052)571-8581 FAX(052)571-8582
□大阪営業部 〒532-0011 大阪市淀川区西中島6-3-14 DNX新大阪ビル TEL(06)6885-1335 FAX(06)6885-1215
□九州営業所 〒812-0038 福岡市博多区祇園町1-28 シグマ博多ビル TEL(092)271-4436 FAX(092)262-0737

電子署名者 : Jun Kato
DN: CN = Jun Kato, C = JP, L = Yodogawa-ku Osaka-city, S = Osaka, O = Nippon Dionex k.k.
場所 : 大阪市淀川区西中島6-3-14
日付 : 2007.08.02 13:29:03 +09'00'